

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**Estudo retrospectivo de fatores que interferem na fertilidade de
vacas receptoras de embriões**

Lucas Rodrigues de Souza

Areia-PB

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**Estudo retrospectivo de fatores que interferem na fertilidade de
vacas receptoras de embriões**

Lucas Rodrigues de Souza

Trabalho de conclusão de curso
apresentado como requisito parcial para
obtenção do título de Bacharel em
Medicina Veterinária pela Universidade
Federal da Paraíba, sob orientação do
professor José Nélio de Sousa Sales.

Areia-PB

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

Lucas Rodrigues de Souza

**ESTUDO RETROSPECTIVO DE FATORES QUE INTERFEREM NA
FERTILIDADE DE VACAS RECEPTORAS DE EMBRIÕES**

Trabalho de conclusão de Curso apresentado como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em **Medicina Veterinária**, pela Universidade Federal da Paraíba.

Aprovada em:

Nota:

Banca Examinadora

Prof. Dr. José Nélio de Sousa Sales. Doutor em Reprodução Animal, UFPB.

Prof. Dr. Ivo Pivato, Doutor em Biotecnologia, UNB.

Msc. Marquiliano de Farias Moura, Mestre em Sanidade e Reprodução de Ruminantes, UFPB.

Profa. Dr. Káterin Elena Bohorquez Grondona

Coordenação de TCC

A meus Bisavós, Ciro Rodrigues Vieira e Eliza Limaverde Rodrigues, por passarem os seus espíritos de Garra, Compromisso e Perseverança para as próximas gerações.

Aos meus avós maternos, Filemon Limaverde Rodrigues e Damiana de Oliveira Rodrigues, e aos meus paternos Antonio Jacinto Lopes e Maria de Lurdes de Souza Lopes por seus ensinamentos e carinho.

A tia Filomena Limaverde Rodrigues, que me deu muito carinho e amor.

Aos meus maravilhosos pais Enoque Jacinto de Souza e Maria Madalena Rodrigues de Souza, por toda atenção, carinho, amor, educação e até mesmo pelas broncas a mim dado.

A meus irmãos Hernandes Rodrigues de Souza e Paulo Henrique Rodrigues de Souza, por sempre me proporcionarem apoio e conselhos quando necessário, e por suas amizades incomparáveis.

Ao meu sobrinho Pietro Brasil Rodrigues de Souza, por todo carinho e amizade.

A minha princesa “Nêga” Haullyany Rodrigues, por sua amizade de irmã e carinho inconfundível, nos quais faz muita falta a todos.

A minha namorada Priscilla Clementino Coutinho, por todo amor, carinho, amizade e companheirismo proporcionado a mim.

E a toda Família Rodrigues.

Dedico

AGRADECIMENTOS

Aos meus avós, por passarem carinho e saber.

Aos meus pais, pelo carinho, amor, conselhos, apoio e confiança a mim ofertados.

Aos meus irmãos por estarem sempre ao meu lado me apoiando.

Ao meu sobrinho Pietro por sua amizade e carinho por mim.

A minha prima Haullyany por sua amizade, carinho, amor e sonhos comigo compartilhados.

Ao mago Newton Junior, por sua passagem rápida, mas rica em amizade a qual lembrarei para sempre.

A tio Celso por me dar conselhos e me passar ensinamento essenciais.

À minha família por torcerem pelo meu sucesso.

A minha cunhada Verônica, por sempre me apoiar e ajudar nas horas de precisão.

A minha linda namorada Priscilla, por todo amor, carinho, companheirismo, dedicação e paciência a mim dado.

Ao meu orientador José Nélío de Sousa Sales por todo conhecimento, confiança e conselhos a mim dado, e por toda ajuda na minha formação acadêmica e na elaboração deste trabalho.

Aos meus Professores no curso de Medicina Veterinária do CCA-UFPB, por me passarem grandes conhecimentos e experiências essenciais para minha formação.

A todos os funcionários terceirizados e efetivos do CCA-UFPB, por me ajudar nas horas mais inoportunas.

Aos Professores e funcionários do IFCE campus Crato, que me ajudaram a se formar como um bom cidadão e a chegar ao ensino superior graças aos seus ensinamentos e conselhos.

A todos os meus colegas IFCE campus Crato, que passamos por momentos formidáveis juntos, em especial meu irmãos de coração Assuério Junior e Eduardo Dias.

Aos meus Professores do ensino fundamental que deram uma boa base educativa, em especial Profa. Claudiana que foi a responsável por me fazer escolher a área das agrárias.

Aos meus colegas do Quarto B-11, meu brother Raylson, Rodrigo Cirino e Diego (Baiano) por os momentos de descontração, amizade e companheirismo.

A todos os meus colegas do alojamento Favela, em especial os do segundo bloco, Wellington, Harlan careca, Neno (Gutemberg), Biu (Duré), Cabeleira (Paulinho), Alvinho (Alvaro), Valdemar, Ezequiel, Renato Filho, Dribinha (Arthur), Betinho e Landrinhas (Paulinho).

A todos os meus colegas do CCA, por me proporcionar todos os dias risadas e boa conversas.

Aos meus parceiros fortes Allan Gledson e Stéphanó Vitório, que estão juntos de mim em qualquer momento.

A minha parceira loira, Camilla, uma garota de garra e personalidade que sempre me ajudou.

Aos meus Compenheiros de CAMEV, Raul Antunes, Wellington, Augusto, Luiza, Magda, Ricardo Torres, Carlosman, Paulo Ricardo, Elidiane, Maurilio, Fábio Júnior, Alisson Gurjão, Daniel, Eduarda, Nailson que me propuseram um crescimento extraordinário político-social.

A turma de medicina veterinária do ano de 2011.1, que em todos os dias de curso me proporcionou alegrias e muitas felicidades.

Ao grupo de CARREGOS, Carol Negona, Alvinho (Alvaro), Paulicha (Ricardo), Yana, Koba (Maria), Camilla, Allan e Lanne, por me fazer rir demais.

A dona France e família, que me deram carinho e apoio sempre que precisei.

Aos Doutores Marquiliano de Farias Moura e Ivo Pivato, por aceitarem a compor a banca de avaliação deste meu trabalho, e por sempre estarem a passar ensinamentos profissionais e de vida para mim.

E a todos os outros que me ajudaram a chegar até este momento.

“Independentemente do que for fazer na sua vida,
Tenha sempre o bem como objetivo,
Pois na vida nós só iremos receber
O que realmente merecemos.”

Lucas Rodrigues de Souza

RESUMO

SOUZA, Lucas Rodrigues, Universidade Federal da Paraíba, Novembro de 2014. **Estudo retrospectivo de fatores que interferem na fertilidade de vacas receptoras de embriões.** Orientador: José Nélío de Sousa Sales.

O objetivo do presente estudo foi identificar os principais pontos críticos que causam impacto negativo na fertilidade de receptoras de embriões bovinos. No experimento foram utilizados 6527 dados reprodutivos de receptoras de embriões de uma fazenda no estado de São Paulo durante os anos de 2000 a 2004. Os dados foram analisados pelo Sistema de Análise Estatística para Windows (SAS, 2001), por regressão logística multivariada utilizando o procedimento LOGISTIC do SAS. As variáveis foram removidas por eliminação inversa, de acordo com o critério estatístico de Wald com valor estipulado de $P > 0,20$. O modelo estatístico final foi composto pelas variáveis de qualidade do corpo lúteo, desenvolvimento embrionário, qualidade do embrião, tipo de biotecnologia utilizada (TE-SOV ou OPU-FIV) e número de transferência [repetidoras de cio (>3 embriões transferidos) ou não repetidoras de cio]. Após essa análise prévia, as variáveis foram submetidas a análises de distribuição binomial utilizando o procedimento GLIMMIX do SAS. Não se verificou interação entre as variáveis estudadas ($P > 0,05$). No estudo, verificou-se que a taxa de prenhez foi influenciada pelo número de embriões transferidos em determinada receptora [não repetidoras de cio (35,7%; 2019/5650) e repetidoras de cio (32,0%; 281/877); $P=0,001$], pelo estágio de desenvolvimento embrionário [mórula (42,0%; 748/1782)^a, blastocisto inicial (31,7%; 292/921)^b, blastocisto (32,0%; 402/1224)^b e blastocisto expandido (32,8%; 790/2412)^b; $P=0,01$], qualidade do corpo lúteo [CL1 (35,7% (1631/4571)^a; CL2 (36,2%; 458/1266)^a e CL3 (31,3%; 174/556)^b; $P=0,01$] e tipo de produção do embrião [embriões frescos produzidos *in vivo* (47,4%; 509/1074)^a, embriões congelados produzidos *in vivo* (38,8%; 590/1520)^b e embriões produzidos *in vitro* (30,3%; 1175/3875)^c; $P=0,001$]. No entanto, a taxa de prenhez não foi influenciada pela estação do ano [verão - novembro a fevereiro (35,8%; 596/1665) e inverno - abril a julho (33,4% (945/2830); $P=0,85$] pela sincronia doadora/receptora [D-2 (39,7%; 418/1053), D-1 (34,5%; 1100/3189), D0 (35,5%; 639/1798), D+1 (29,4%; 143/487); $P=0,13$], pelo lado da transferência [lado direito (35,0%; 1398/3991) e lado esquerdo (35,6%; 901/2534); $P=0,98$]. Conclui-se que a fertilidade em receptoras de embriões é influenciada por múltiplos fatores, no qual se verificou menor fertilidade em receptoras repetidoras de cio,

embriões abaixo do estágio de mórula, baixa qualidade do corpo lúteo e em embriões congelados ou produzidos *in vitro*.

Palavras-chave: Biotecnologia, Fertilidade, FIV, superovulação.

ABSTRACT

SOUZA, Lucas Rodrigues, Federal University of Paraiba, November, 2014. **Retrospective study of factors that affect the fertility of bovine embryo recipients.** Adviser: José Nélío de Sousa Sales

The aim of this study was to identify critical points that have negative impact on fertility of bovine embryo recipients. In the experiment were used 6527 reproductive data from embryo recipients of a farm located in the state of São Paulo during the years 2000-2004. Data were analyzed using the Statistical Analysis System for Windows (SAS, 2001), by multivariate logistic regression using the LOGISTIC procedure of SAS. Variables were removed by reverse elimination, according to Wald's statistical criteria with stipulated value $P > 0.20$. The final statistical model included the variables of quality of *corpus luteum*, embryo development, embryo quality, biotechnology's type used (TE-SOV or OPU- IVF) and number of transfer [repeat breeders (> 3 embryos transferred) or not repeat breeders]. After this initial analysis, the variables were analyzed for the binomial distribution using the GLIMMIX procedure of SAS. There was no interaction between these variables ($P > 0.05$). In the study, it was found that the pregnancy rate was influenced by the number of embryos transferred in defined receptor [not repeat breeders (35.7%, 2019/5650) and repeat breeders (32.0%, 281/877); $P = 0.001$], by the stage of embryonic development [morula (42.0%, 748/1782)^a, by the early blastocyst (31.7%, 292/921)^b, blastocyst (32.0%, 402/1224) and expanded blastocyst (32.8%, 790/2412)^b; $P = 0.01$], the quality of the *corpus luteum* [CL1 (35.7% (1631/4571); CL2 (36.2%, 458/1266) and CL3 (31.3%, 174/556), $P = 0.01$] and type of embryo's production [fresh embryos produced *in vivo* (47.4%, 509/1074)^a, the frozen embryos produced *in vivo* (38.8%, 590/1520)^b and embryos produced *in vitro*, (30.3%, 1175/3875)^c, $P = 0.001$]. However, the pregnancy rate was not influenced by season [summer - November to February (35.8%, 596/1665) and winter - April to July (33.4% (945/2830), $P = 0.85$] by sync donor/recipient [D-2 (39.7%, 418/1053), D-1 (34.5%, 1100/3189), D0 (35.5%, 639/1798), D+1 (29.4%, 143/487); $P = 0.13$], by the side of transfer [right side (35.0%, 1398/3991) and left side (35.6%, 901/2534), $P = 0.98$]. We concluded that fertility in recipient embryos is influenced by multiple factors in which there was less fertility in repeat breeders' receptors, in embryos up to the morula stage, low quality of the *corpus luteum*, and in frozen or *in vitro* produced embryos.

Keywords: Biotechnology, Fertility, IVF, superovulation.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	11
3. RESULTADOS	12
4. DISCUSSÃO.....	15
5. CONCLUSÃO.....	17

1. INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira conta com um pouco mais de 200 milhões de indivíduos bovinos, sendo a bovinocultura um dos principais destaques do agronegócio brasileiro no cenário mundial. O Brasil é dono do segundo maior rebanho efetivo do mundo, e o maior explorado comercialmente, com animais utilizados tanto para a produção leiteira na qual produz cerca 20 bilhões de litros de leite por ano, como para exploração de carne que o levou a liderança desde 2004 nas exportações mundial, com um quinto da carne comercializada internacionalmente e vendendo-a em mais de 180 países (MAPA, 2014; EMBRAPA, 2014).

A bovinocultura é uma atividade exercida desde pequenos a grandes produtores rurais inseridos em todos os estados do território brasileiro, que é capaz de gerar uma renda bruta de R\$67 bilhões, sendo assim de grande importância econômica e social no país (MAPA, 2014). Com o intuito de melhorar os rebanhos geneticamente para se chegar a produtividades ainda maiores, faz-se o uso de biotecnologias no manejo reprodutivo dos rebanhos, tendo como as principais inseminação artificial e a transferência de embrião.

A transferência de embriões em bovinos foi descrita inicialmente por Umbaugh em 1949, que resultou em quatro gestações que não foram a termo (Betteridge, 1981). No entanto, a indústria da transferência de embriões bovinos surgiu na América do Norte no início dos anos 70 tendo como o principal nome Rowson (Betteridge, 2003). Essa biotecnologia cresceu nos últimos anos e no ano de 2012 a produção mundial atingiu cerca de 1.200.000 embriões transferidos, sendo 750.000 oriundos de superovulação de fêmeas e 450.000 de produção *in vitro*, tornando-se grande negócio internacional (Mepletoft, 2013). A produção de embriões *in vitro* corresponde a 37,5% de todas as transferências embrionárias do mundo, sendo o Brasil principal produtor desse tipo de embriões com 86% da PIV mundial (IETS, 2013).

A utilização de transferência de embriões em bovinos tem como objetivo ampliar o material genético melhorador não somente proveniente do macho, mas também da fêmea (Jones e Lamb, 2008). Com isso a transferência de embriões permite maior produção de descendentes de progenitores com potencial material genético (Baruselli et al, 2006). No entanto inúmeros fatores podem interferir nos resultados de programas de transferência de embriões, dentre eles podemos citar a nutrição, controle de ciclo estral, saúde reprodutiva das receptoras, qualidade do embrião e habilidade do técnico (Seidel, 1991; Jones e Lamb, 2008).

Diante disso, o objetivo do presente estudo foi realizar uma análise retrospectiva para identificar os principais pontos críticos que tem impacto negativo na fertilidade de receptoras de embriões.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no laboratório de Reprodução Animal do Centro de Ciências Veterinária da UFPB Campus II de Areia. As atividades desenvolvidas entre agosto de 2011 e julho de 2012 compreenderam em coleta de dados, geração e análise dos resultados estatísticos. Nesse estudo, foram utilizados 6527 dados de uma fazenda de receptoras de embriões localizada no estado de São Paulo - SP e disponibilizados em planilhas do programa Excel, as quais continham as informações individuais de cada animal (receptora): raça; mês e ano da transferência de embriões; número de transferências recebidas pela receptora, sincronia doadora/receptora; tamanho e ovário onde o corpo lúteo estava localizado; e o tipo de produção, grau e estado de desenvolvimento do embrião transferido. Após a colheita dos dados, as planilhas foram elaboradas no formato para realização da análise estatística e identificação dos pontos críticos.

A análise estatística foi realizada pelo Sistema de Análise Estatística para Windows (SAS, 2001), sendo os dados analisados por regressão logística multivariada utilizando o procedimento LOGISTIC do SAS. As variáveis foram removidas por eliminação inversa, de acordo com o critério estatístico de Wald no qual o valor estipulado foi de $P > 0,20$. O modelo da estatística final foi composto pelas variáveis qualidade do corpo lúteo, desenvolvimento embrionário, qualidade do embrião, tipo de biotecnologia utilizada e categoria animal (repetidoras de cio ou não). Após essa análise prévia, as variáveis foram submetidas a análises de distribuição binomial utilizando o procedimento GLIMMIX do SAS. Os dados foram expressos em porcentagem.

3. RESULTADOS

Na avaliação dos dados das receptoras não se observou interação entre as variáveis avaliadas e o tipo de biotecnologia empregada ($P>0,05$). Assim verificou-se que as receptoras que receberam até três embriões transferidos [35,7% (2019/5650)] obtiveram maior ($P=0,001$) taxa de prenhez quando comparadas a receptoras repetidoras de cio [32,0% (281/877); Figura 1]. Além disso, não foi observada diferença estatística ($P=0,85$) entre receptoras que receberam embriões no verão [35,8% (596/1665)] e no inverno [33,4% (945/2830)]. A sincronia entre doadora e receptora também não interferiu ($P=0,13$) na fertilidade de receptoras de embriões [D-2 39,7% (418/1053), D-1 34,5% (1100/3189), D0 35,5% (639/1798), D+1 29,4% (143/487)].

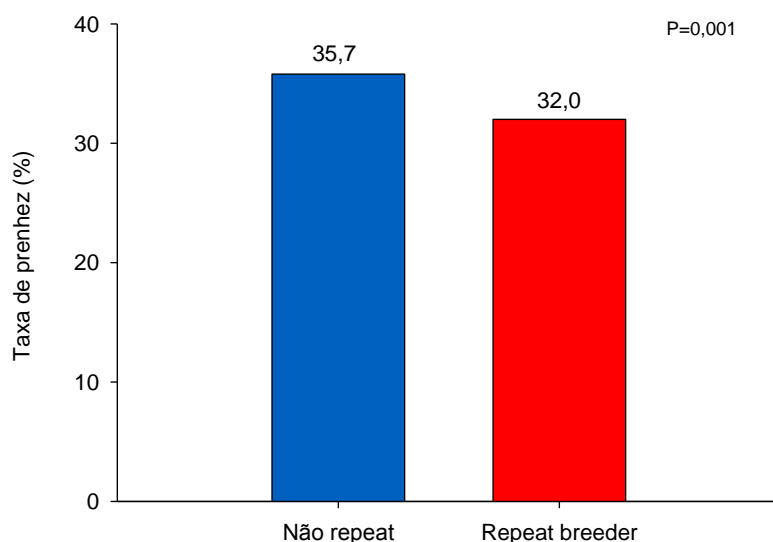


Figura 1. Taxa de prenhez de vacas receptoras não repetidoras de cio (receberam até três transferências de embrião) e repetidoras de cio (receberam mais de três transferências de embrião).

Além disso, embriões classificados como mórula produziram maior ($P=0,01$) taxa de prenhez [42,0% (748/1782)] do que os demais estágios embrionários [Blastocisto inicial 31,7% (292/921), blastocisto 32,0% (402/1224) e blastocisto expandido 32,8% (790/2412); Figura 2]. E receptoras de embriões com corpo lúteo de qualidade 1 e 2 apresentaram maior taxa de concepção [CL1 35,7% (1631/4571)^a; CL2 36,2% (458/1266)^a e CL3 31,3% (174/556)^b; $P=0,01$; Figura 3].

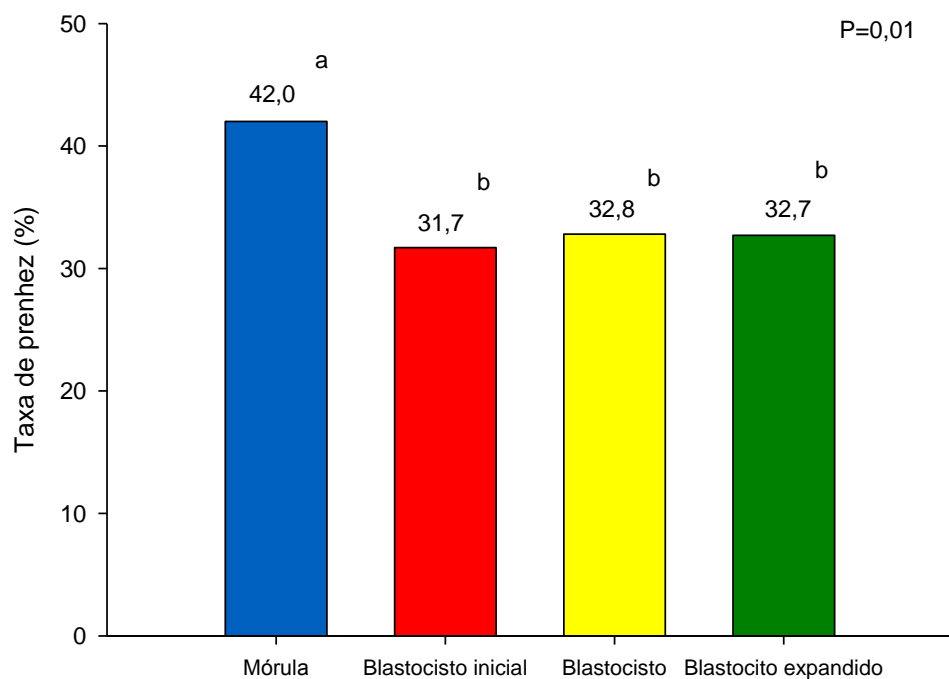


Figura 2. Taxa de prenhez de vacas receptoras de embriões de acordo com o estágio embrionário.

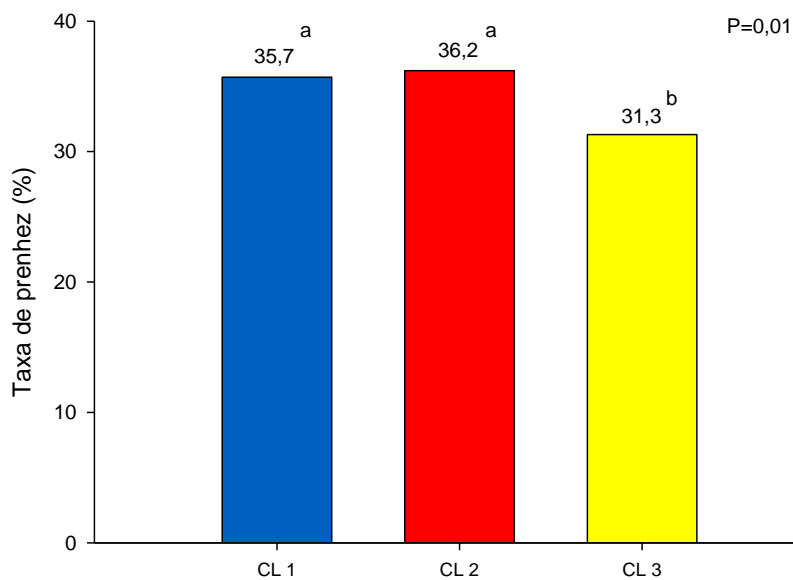


Figura 3. Taxa de prenhez de vacas receptoras de embriões de acordo com a qualidade do CL (CL1 - excelente, CL2 - bom, e CL3 - regular) no dia da transferência.

Outro fator que não interferiu na fertilidade das receptoras foi a escolha do corno uterino em que o embrião foi transferido, sendo semelhante ($P=0,98$) entre o lado direito [35,0% (1398/3991)] e esquerdo [35,6% (901/2534)]. Por fim, a fertilidade foi influenciada pelo tipo de biotecnologia empregada para a produção e armazenamento do embrião ($P=0,01$), em que se verificou maior taxa de concepção em receptoras que receberam embriões frescos produzidos *in vivo* [47,4% (509/1074)^a] em relação aos embriões congelados produzidos *in vivo* [38,8% (590/1520)^b] e embriões produzidos *in vitro* [30,3% (1175/3875)^c; Figura 4].

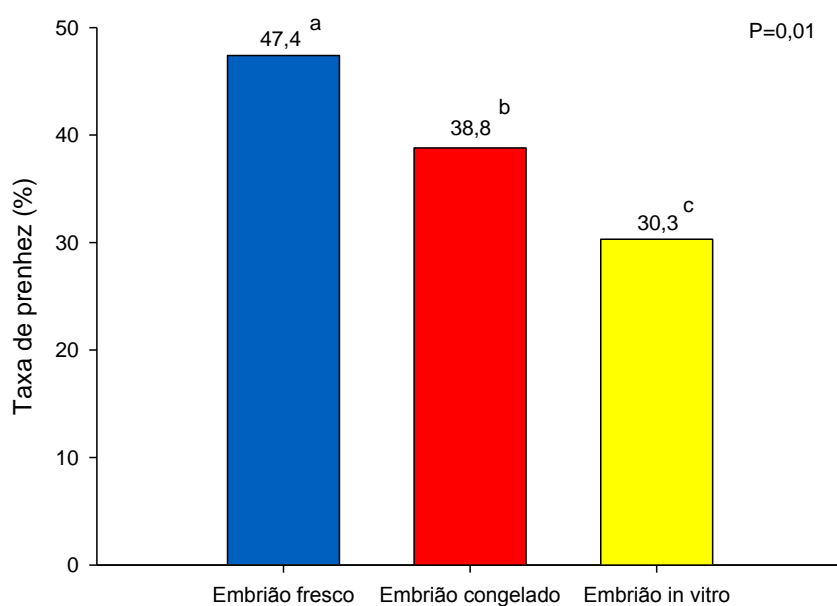


Figura 4. Taxa de prenhez de vacas receptoras de embriões de acordo com o tipo de biotecnologia empregada para a produção e armazenamento dos embriões.

4. DISCUSSÃO

No presente estudo, vacas repetidoras de cio apresentaram menor taxa de prenhez. No entanto, em outros estudos não foi observado redução da fertilidade em vacas repetidoras de estro que receberam embrião sete dias após o estro (Baruselli et al., 2011). Sabendo-se que em vacas repetidoras de estro, a principal causa de redução da fertilidade é a qualidade do oócito (Ferreira et al., 2011), não se esperava redução da fertilidade nessas vacas, visto que todas receberam embriões de alta qualidade, tornando provável a possibilidade de que esses animais apresentem também problemas ligados ao útero, levando assim a necessidade de novos estudos sobre tal fator para melhor entendê-lo.

O estágio de desenvolvimento dos embriões transferidos também influenciou na taxa de prenhez das receptoras, obtendo melhores resultados na transferência destes em fase de mórula [42,0% (748/1782)] quando comparado com os demais estágios embrionários [Blastocisto inicial 31,7% (292/921), blastocisto 32,0% (402/1224) e blastocisto expandido 32,8% (790/2412)]. Esses resultados foram diferentes dos estudos de Hasler (2001) e Spell et al. (2001) em que não observaram diferença na taxa de prenhez entre os diferentes estágios embrionários.

Outro fator que interfere na fertilidade de receptoras de embriões é o estresse térmico (Hansen, 2009). Porém, no presente estudo não se verificou redução de fertilidade em receptoras que receberam os embriões no período de verão, ao contrário que é observado em vários estudos que apontam redução da fertilidade em períodos quentes em vacas inseminadas (Rodrigues et al., 2010). Essa baixa fertilidade no verão se deve principalmente por comprometimento da qualidade do oócito (Hansen, 2007) e ausência de mecanismos de defesa contra o estresse térmico e oxidativo em embriões antes da fase de mórula (Hansen, 2009). Dessa forma, os efeitos deletério do estresse térmico não afetariam o desenvolvimento embrionário, porque os embriões transferidos já havia ultrapassado a fase de maior susceptibilidade ao estresse térmico.

A sincronia doadora/receptora não interferiu na fertilidade de receptoras de embriões, corroborando com estudos de Chebel et al. (2008) e Spell et al (2001), em que não houve diferença quando vacas receptoras receberam embriões em -24, -12, 0, +12 e +24h de sincronia com as vacas doadoras, evidenciando assim uma aparência funcional de reconhecimento materno entre os úteros das receptoras nestes diferentes dias pós ovulação.

Além disso, verificou-se que receptoras com corpos lúteos maiores apresentaram maior fertilidade, corroborando com estudos da literatura (Binelli et al., 2005). Pois Sabe-se que receptoras com corpos lúteos maiores, secretam maior quantidade de progesterona (Baruselli et al., 2010) que permite maior desenvolvimento do embrião. Tais embriões irão produzir maior quantidade de interferon-tau e consequentemente melhor sinalização para o reconhecimento materno da gestação (Mann et al., 1995, 1999) e assim, evita mais eficientemente a luteólise (Binelli et al., 2005; Mann et al., 1999). No entanto, o corno uterino em que o corpo lúteo foi identificado não interferiu na taxa de concepção das receptoras.

Avaliando o efeito da biotecnologia empregada na produção do embrião verificou-se que embriões frescos produzidos *in vivo* apresentaram melhores resultados na fertilidade de receptoras de embriões. Resultados semelhantes foram observados na literatura (Chebel *et al.*, 2008; Mepletoft, 2012). Tais resultados se devem provavelmente pela menor manipulação e maior similaridade com o desenvolvimento normal do embrião dentro do útero (Wright and Ellington, 1995).

5. CONCLUSÃO

Conclui-se que a fertilidade em receptoras de embriões é influenciada por múltiplos fatores, no qual se observou no estudo o efeito de número de transferências recebidas (repeat breeder), desenvolvimento do embrião, qualidade do corpo lúteo e tipo de biotecnologia empregada na produção de embriões.

REFERÊNCIAS

BARUSELLI, P.S.; FERREIRA, R.M.; SALES, J.N.S.; GIMENES, L.U.; SÁ FILHO, M.F.; MARTINS, C.M.; RODRIGUES, C.A.; BÓ, G.A. Timed embryo transfer programs for management of donor and recipient cattle. *Theriogenology*. 76: 1583-1593. 2011.

BARUSELLI, P.S.; FERREIRA, R.M.; SÁ FILHO, M.F.; NASSER, L.F.; RODRIGUES, C.A.; BÓ, G.A. Bovine embryo transfer recipient synchronisation and management in tropical environments. *Reproduction, Fertility and Development*. 22: 67-74. 2010.

BARUSELLI, P.S.; SÁ FILHO, M.F.; MARTINS, C.M.; NASSER, L.F.; NOGUEIRA, M.F.G.; BARROS, C.M.; BÓ, G.A. Superovulation and embryo transfer in *Bos indicus* Cattle. *Theriogenology*. 65:77-88. 2006.

BETTERIDGE KJ. An historical look at embryo transfer. *J Reprod Fertil*, 62:1-13. 1981.

BETTERIDGE, K.J. A history of farm animal embryo transfer and some associated techniques. *Anim. Reprod. Sci.* 79:203-244. 2003.

BINELLI, M.; MACHADO, R.; BERGAMASCHI, M.A.C.M.; BARUSELLI, P.S.; BERTAN, C.M. Estratégias para inibir a luteólise e aumentar a fertilidade em bovinos. *Revista do Colégio Brasileiro de Reprodução Animal*. 2005.

CHEBEL, R.C.; DEMÉTRIO, D.G.B. & METZGER, J. Factors affecting success of embryo collection and transfer in large dairy herds. *Theriogenology*. 69: 98-106. 2008.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). Gado de leite. Disponível em: <https://www.embrapa.br/gado-de-leite>. 2014.

FERREIRA, R.M.; AYRES, H.; CHIARATTI, M.R.; FERRAZ, M.L.; ARAUJO, A.B.; RODRIGUES, C.A.; WATANABE, Y.F.; VIREQUE, A.A.; JOAQUIM, D.C.; SMITH, L.C.; MEIRELLES, F.V.; BARUSELLI, P.S. The low fertility of repeat-breeder cows during

summer heat stress is related to a low oocyte competence to develop into blastocysts. *Journal of Dairy Science*. 94: 2383-2392. 2011.

HANSEN, P.J. Effects of heat stress on mammalian reproduction. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 364(1534): 3341–3350. 2009.

HANSEN, P.J. Exploration of genetic and physiological determinants of embryonic resistance to elevate temperatures to improve embryonic survival in dairy cattle during heat stress. *Theriogenology*. 68: 242-49. 2007.

HASLER, J.F. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle. *Theriogenology*. 56:1401–15. 2001.

INTERNATIONAL EMBRYO TRANSFER SOCIETY (IETS). Embryo Transfer Newsletter. Disponivel em: <http://www.iets.org> . 2013.

JONES, A.L. & LAMB, C.G. Nutrition, synchronization, and management of beef embryo transfer recipients. *Theriogenology*. 69:107-115. 2008.

MANN G.E. & LAMMING G.E. Progesterone inhibition of the development of the luteolytic signal in cows. *Journal of reproduction and fertility*. 104:1-5. 1995.

MANN, G.E.; LAMMING, G.E.; ROBINSON, R.S.; WATHES, D.C. The regulation of interferon-tau production and uterine hormone receptors during early pregnancy. *Journal of reproduction and fertility*. 54:317-28. 1999.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABESTECIMENTO (MAPA). Animal: Bovinos e bubalinos. Disponivel em: <http://www.agricultura.gov.br/>. 2014.

MEPLETOFT, R.J. Perspectives on Bovine Embryo Transfer. *WCDS advances in dairy technology*. 24: 83-93. 2012.

MEPLETOFT, R. J. History and perspectives on bovine embryo transfer. *Anim Reprod*, 10:168-173. 2013.

RODRIGUES, C.A.; TEIXEIRA, A.A.; FERREIRA, R.M.; AYRES, H.; MANCILHA, R.F.; SOUZA, A.H.; BARUSELLI, P.S. Effect of fixed-time embryo transfer on reproductive efficiency in high-producing repeat-breeder Holstein cows. *Animal Reproduction Science*. 118: 110-117. 2010.

SEIDEL Jr, G.E. Applications of embryo transfer. In: *Training Manual for embryo transfer in cattle*. p. 3-13. 1991.

SPELL, A.R; BEAL, W.E; CORAH, L.R; LAMB, G.C; Evaluating recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle. *Theriogenology*. 56:287–97. 2001.

WRIGHT Jr, R.W. & ELLINGTON, J. Morphological and physiological differences between in vivo- and in vitro-produced preimplantation embryos from livestock species. *Theriogenology*. 44:1167-1189. 1995.